

应用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 色谱柱实现现代化 HPLC 方法

使用 Poroshell 120 SB-C18 色谱柱分析羰基-DNPH 衍生物，样品通量提高三倍

作者

Rong-jie Fu
安捷伦科技（上海）有限公司

摘要

在传统的 5 μm 色谱柱上开发羰基二硝基苯肼 (DNPH) 衍生物的原始分析方法，然后将该方法转移并扩展应用于不同粒径的 Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18 色谱柱，其中包括 4、2.7 和 1.9 μm 色谱柱。将该方法从较大的全多孔颗粒填料色谱柱扩展至较小的表面多孔色谱柱后，运行时间和溶剂消耗显著减少。

前言

羰基化合物是通常存在于空气和土壤中的一类有害物质。美国、欧盟、中国和日本

的许多法规都要求控制不同环境样品中羰基化合物的含量^[1,2]。由于羰基化合物具有高挥发性和反应活性，在液相色谱分析之前，通常会转化为 DNPH 衍生物。

在本应用简报中，我们将采用 Agilent ZORBAX StableBond C18, 4.6 × 250 mm, 5 µm 色谱柱分析 16 种羰基-DNPH 衍生物的原始方法转移到了相同规格的 4 µm Poroshell 120 SB-C18 色谱柱上。然后将该方法扩展到了不同粒径的色谱柱（包括 2.7 和 1.9 µm）上，分离度保持不变。运行时间和溶剂消耗大幅减少。

实验部分

试剂与化学品

所有试剂均为 HPLC 级或更高等级。HPLC 级乙腈购自 J. T. Baker (Center Valley, PA, USA)。水经由 ELGA PURELAB Chorus 系统 (High Wycombe, UK) 纯化。标准储备液购自安谱实验科技公司（中国上海）。用乙腈稀释储备液至最终浓度为 10 µg/mL，制得混标溶液。

设备与材料

- 色谱柱进口：Agilent InfinityLab Quick Connect 快速连接液相色谱接头（部件号 5067-5965）
- 色谱柱出口：Agilent InfinityLab Quick Turn 液相色谱接头（部件号 5067-5966）
- 安捷伦样品瓶，螺口，棕色，带书写签，经认证，2 mL（部件号 5182-0716）
- 安捷伦固定螺口盖，蓝色，带 PTFE/红色硅胶隔垫（部件号 5190-7024）
- Agilent InfinityLab 溶剂瓶，棕色，1000 mL（部件号 9301-6526）
- Agilent InfinityLab Stay Safe 溶剂瓶安全盖，GL45，3 口，1 个放空阀（部件号 5043-1219）
- Eppendorf 移液管和重复用移液器

仪器

- Agilent 1290 Infinity II 高速泵 (G7120A)
- Agilent 1290 Infinity II Multisampler (G7167B)
- Agilent 1290 Infinity II 高容量柱温箱 (G7116B)
- Agilent 1290 Infinity II DAD (G7117B)
- Agilent OpenLab CDS, C.01.07 版

表 1. 本应用简报中分析的目标羰基-DNPH 化合物

序号	名称	CAS	储备液浓度 (µg/mL)
1	乙醛-DNPH	1019-57-4	100
2	丙酮-DNPH	1567-89-1	100
3	丙烯醛-DNPH	888-54-0	100
4	苯甲醛-DNPH	1157-84-2	100
5	2-丁酮-DNPH	958-60-1	100
6	丁醛-DNPH	1527-98-6	100
7	丁烯醛-DNPH	1527-96-4	100
8	环己酮-DNPH	1589-62-4	100
9	甲醛-DNPH	1081-15-8	100
10	己醛-DNPH	1527-97-5	100
11	异丁烯醛-DNPH	5077-73-6	100
12	丙醛-DNPH	725-00-8	100
13	邻甲苯甲醛-DNPH 间甲苯甲醛-DNPH	1773-44-0 2880-05-9	100 100
14	对甲苯甲醛-DNPH	2571-00-8	100
15	戊醛-DNPH	2057-84-3	100

表 2. HPLC 条件

色谱柱	流动相组成	流速 (mL/min)	进样量 (μL)	柱温箱 (°C)	二极管阵列 检测器
Agilent ZORBAX StableBond C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm (部件号 880975-902)	水/ACN: 0–8 min, 57% ACN, 8–10 min, 57% 至 75% ACN, 10–17 min, 75% ACN	1.5	5	50	360 nm, 5 Hz
Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18, 4.6 × 250 mm, 4 μm (部件号 680970-902)					
Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18, 4.6 × 150 mm, 2.7 μm (部件号 683975-902)	水/ACN: 0–5 min, 57% ACN, 5–6 min, 57% 至 75% ACN, 6–10 min, 75% ACN	1.5	3	50	360 nm, 40 Hz
Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18, 3.0 × 100 mm, 1.9 μm (部件号 685675-302)	水/ACN: 0–3.3 min, 57% ACN, 3.3–4 min, 57% 至 75% ACN, 4–6.7 min, 75% ACN	0.64	0.85	50	360 nm, 80 Hz

结果与讨论

如图 1 B 所示，使用全多孔颗粒填料 ZORBAX StableBond C18, 4.6 × 250 mm, 5 μm 色谱柱，在 14 分钟内完成对 16 种

羰基-DNPH 衍生物的原始分离。图 1A 展示了在 InfinityLab Poroshell 120 SB-C18, 4.6 × 250 mm, 4 μm 色谱柱上采用相同的液相色谱方法分析同一样品获得的结果。与具有相同固定相的 5 μm 全多孔颗粒填

料色谱柱相比，4 μm 表面多孔颗粒填料色谱柱将效率提高了一倍。结果表明，在不改变分析方法的情况下，使用 4 μm 表面多孔颗粒填料色谱柱可以提高分离度。

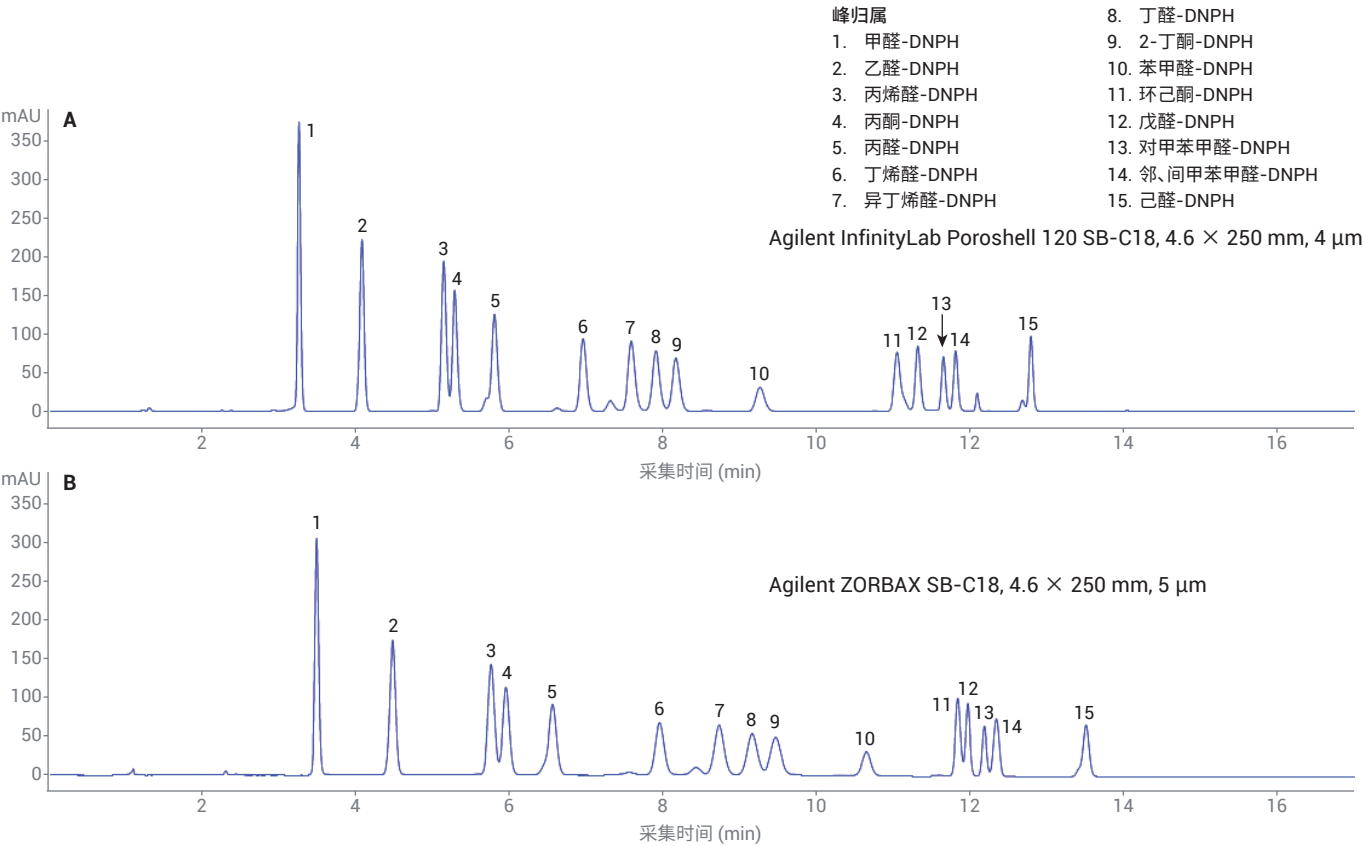


图 1. 比较使用 Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18 色谱柱和 ZORBAX StableBond C18 色谱柱获得的色谱图

图 2 展示了在 4、2.7 和 1.9 μm 表面多孔颗粒填料色谱柱之间的方法可扩展性。3 种色谱柱的柱长与粒径之比 (L/dp) 相似。这使得分离可以在不同粒径的色谱柱之间转移。使用小粒径和短色谱柱的优点包括缩短运行时间、节省溶剂。相比于 SB-C18 250 mm, 4 μm 方法, 使用 2.7 μm 色谱柱时分析速度提高了 40%, 所用流动相减少了 41%, 同时分离度不变。与 250 mm 色谱柱相比, 1.9 μm 色谱柱的分析速度提高了 61%, 所用流动相减少 83%。结果汇总于表 3 中。

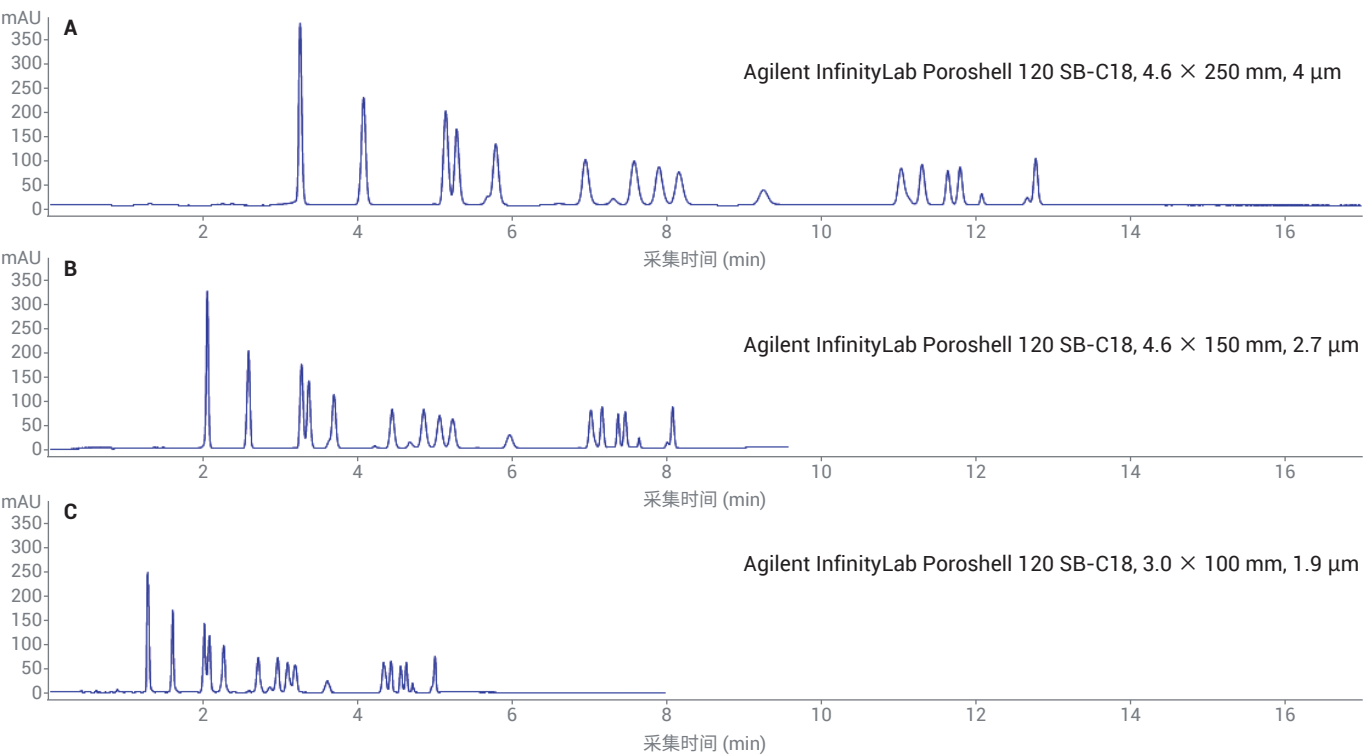


图 2. 在 4、2.7 和 1.9 μm Agilent InfinityLab Poroshell 120 SB-C18 色谱柱之间进行方法扩展获得的色谱图

表 3. 使用不同规格色谱柱的分析结果

色谱柱规格	L/dp	运行时间	溶剂消耗
4.6 × 250 mm, 4 μm	62.5	17 min	25.5 mL
4.6 × 150 mm, 2.7 μm	55.6	10 min (–41%)	15 mL (–41%)
3 × 100 mm, 1.9 μm	52.6	6.7 min (–61%)	4.3 mL (–83%)

结论

使用传统色谱柱（例如 ZORBAX StableBond C18, 5 μm 色谱柱）实现的分离，可以使用相同规格的 Poroshell 120 SB-C18, 4 μm 色谱柱进行改进。由于选择性相同，该方法可以轻松扩展至不同的颗粒填料系列（ZORBAX 和 Poroshell）和粒径。采用小颗粒的色谱柱能够采用更短的柱长，从而显著减少运行时间和溶剂消耗。

参考文献

1. Determination of Carbonyl Compounds by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). EPA Method 8315a, *Environmental Protection Agency*, Washington, DC, USA, **1996**
2. Soil and Sediment — Determination of Carbonyl Compounds — High Performance Liquid Chromatography. HJ 997-2018, *Standards of Environmental Protection*, China, **2018**

查找当地的安捷伦客户中心：

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线：

800-820-3278，400-820-3278（手机用户）

联系我们：

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价：

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

DE.194837963

本文中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司，2020
2020 年 3 月 9 日，中国出版
5994-1809ZHCN